



北海道公立大学法人
札幌医科大学
Sapporo Medical University

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title 論文題目	Clonal analysis revealed functional heterogeneity in cancer stem cell phenotypes in uterine endometrioid adenocarcinoma (子宮体癌由来のクローン株解析は癌幹細胞の機能的多様性を明らかにした)
Author(s) 著 者	田淵, 雄大
Degree number 学位記番号	甲第 2964 号
Degree name 学位の種別	博士 (医学)
Issue Date 学位取得年月日	2017-03-31
Original Article 原著論文	札幌医学雑誌第 86 号第 1 号 (平成 30 年 3 月)
Doc URL	
DOI	
Resource Version	

学位論文の内容の要旨

報 告 番 号	甲第 2964 号	氏 名	田 渕 雄 大
<p>論文題名</p> <p>Clonal analysis revealed functional heterogeneity in cancer stem cell phenotypes in uterine endometrioid adenocarcinoma</p> <p>研究目的</p> <p>子宮体癌は不正性器出血により早期に発見されることも多く、婦人科悪性疾患の中でも比較的予後良好とされているが、進行例や再発例ではいまだに予後の改善は見られていない。癌の細胞集団の中には、癌幹細胞と呼ばれる少数の細胞集団の存在が近年報告されており、治療抵抗性や自己複製能を持つことから、癌の再発や転移に関与していると考えられている。治療成績の向上のためには癌幹細胞を標的とした戦略も必要であると考え、子宮体癌における癌幹細胞を同定し、その機能解析を行うことにより、新しい治療戦略の構築を本研究の目的とした。</p> <p>研究方法</p> <p>これまでの既存の報告は、癌細胞株を用いたものが多く、腫瘍の臨床像を反映していない可能性も報告されているため、本研究は子宮体癌の手術検体を用いた。札幌医科大学婦人科にて手術を受けた患者の手術検体を一部採取し、二種類の方法にて細胞培養を行った。血清を含む培養液で接着培地での serum-culture と、無血清培養液で非接着培地での sphere-culture を行った（sphere-culture 法）。Sphere-culture cell に対して limiting-dilution 法と single cell sorting 法を行いクローンを樹立し、それら複数のクローンに対して解析を行った。qRT-PCR 法、ALDEFLUOR assay、抗がん剤耐性試験、cell proliferation assay、cell cycle assay、mouse xenograft assay、マウス腫瘍の免疫染色、SAGE 法により、クローンの機能解析、遺伝子発現プロファイル解析を行った。</p> <p>研究成績及び考察</p> <p>樹立されたクローンはその細胞増殖形態により、sphere と呼ばれる楕円体の細胞集塊を多く作る Sphere clone(S clone)と、細胞集塊は形成せずに白血病細胞のように独立して均一で早い増殖形態を示す Leukemia Like clone(LL clone)の二種類に分類した。樹立した複数のクローンの解析により、LL clone は、①高い細胞増殖能、②高い ALDH^{high} cell 比率、③高い腫瘍形成能、④高い抗癌剤感受性、を示す一方、S clone は、①低い細胞増殖</p>			

能、②低い ALDH^{high} cell 比率、③低い腫瘍形成能、④高い抗癌剤耐性、を示した。SAGE による遺伝子発現の比較により、これらクローンは遺伝子発現の傾向も大きく異なっていることが示された。癌の悪性度を推し量る上で重要であり、さらに癌幹細胞性の指標となる腫瘍形成能と抗癌剤耐性に関しては、単一のクローンがその役割を担ってはならず、LL clone が腫瘍形成能、S clone が抗癌剤耐性を持っていた。これまで、単一の遺伝子により癌幹細胞を追及して解析する報告が多かったが、本研究は癌幹細胞の heterogeneity を示唆し、癌の駆逐には複数の癌幹細胞をも標的にする必要性を示す結果となった。

結論

子宮体癌から複数のクローン株を作成し、その遺伝子発現や機能解析を行った。悪性腫瘍の性質は複数のクローンにより分担されており、このことは癌幹細胞の heterogeneity を示唆し、癌治療の複雑さを裏付ける結果となった。

論文審査の要旨及び担当者

(平成 29 年 3 月 31 日授与)

報告番号	甲第 2964 号	氏 名	田 淵 雄大
論文審査 担 当 者	主査 齋藤 豪 教授	副査 鳥越 俊彦 教授	
	副査 一宮 慎吾 教授	委員 澤田 典均 教授	

論文題名	Clonal analysis revealed functional heterogeneity in cancer stem cell phenotypes in uterine endometrioid adenocarcinoma (子宮体癌由来のクローン株解析は癌幹細胞の機能的多様性を明らかにした)
結果の要旨 癌の研究において、細胞株を用いた解析は多く報告されているが、本研究においては、子宮体癌の腫瘍組織からクローンの樹立を成功させ、詳細な解析を行った。このことは、より臨床に則した解析結果になっていると考えられる。樹立されたクローンの解析により、高い腫瘍形成能を持つクローンと、抗がん剤耐性を持つクローンの存在を示した。 つまり、悪性腫瘍としての機能が複数のクローン或いは複数の癌幹細胞によって分担されている可能性を示した。これまで、一つのがん幹細胞で悪性腫瘍の性質の全てを説明しようとする研究が多い中、本研究ではがんの heterogeneity に注目し、がん幹細胞の heterogeneity をも示唆するような結果を導いた研究であり、学位授与に値する研究であると認めた。	